

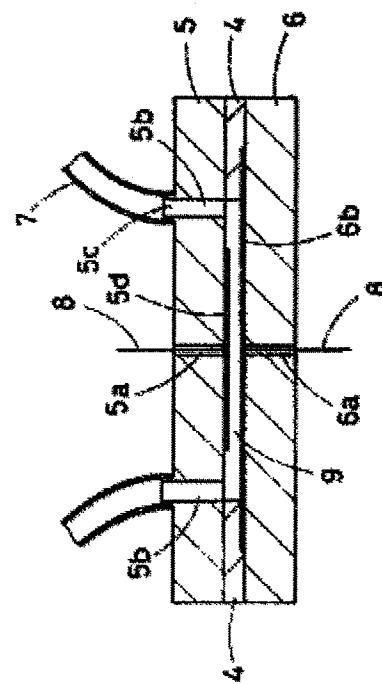
BIOSENSOR

Publication number: JP60244853
Publication date: 1985-12-04
Inventor: KOBAYASHI YOSHIAKI; DATE HARUYUKI; MIYAWAKI AKIYOSHI
Applicant: MATSUSHITA ELECTRIC WORKS LTD
Classification:
 - **international:** C12M1/34; C12M1/40; C12Q1/00; G01N27/28;
 C12M1/34; C12M1/40; C12Q1/00; G01N27/28; (IPC1-7): C12M1/34; C12M1/40; G01N27/30; G01N27/46
 - **European:** C12Q1/00B; G01N27/28
Application number: JP19840103170 19840521
Priority number(s): JP19840103170 19840521

[Report a data error here](#)

Abstract of JP60244853

PURPOSE: To increase detection sensitivity and speed up response by forming a passage in which fluid to be measured flows between a plate type working electrode to which a bioactive material is fixed and a counter electrode faces the working electrode at a narrow interval. **CONSTITUTION:** Substrates 5 and 6 face each other across a sheet 4, a large hole 5b as an intake and outlet for the fluid to be measured is provided at both sides of the substrate 5, and the plate type counter electrode 5d to which a conductor 8 is connected is fixed to the inside of the substrate 5. Then, the working electrode 6b which is formed by fixing the bioactive material such as enzyme and a microorganism to a plate type electrode is fixed to the inside flank of the substrate 6, and a conductor is connected to this working electrode 6b. Therefore, the space formed by covering the upper and lower surfaces of the holes of the sheet 4 with the substrates 5 and 6 forms the passage 9 in which the fluid to be measured flows and the working electrode 6b and counter electrode 5d face each other across the passage 9, so they contacts the solution to be measured which passes through the passage 9.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

⑫ 公開特許公報 (A) 昭60-244853

⑬ Int.Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号	⑭公開 昭和60年(1985)12月4日
G 01 N 27/30		E-7363-2G	
27/46		A-7363-2G	
// C 12 M 1/34		8412-4B	
1/40		8412-4B	審査請求 未請求 発明の数 1 (全 7頁)

⑮発明の名称 バイオセンサ

⑯特 願 昭59-103170

⑰出 願 昭59(1984)5月21日

⑱発明者 小林 義昭 門真市大字門真1048番地 松下電工株式会社内
 ⑲発明者 伊達 晴行 門真市大字門真1048番地 松下電工株式会社内
 ⑳発明者 宮脇 明宜 門真市大字門真1048番地 松下電工株式会社内
 ㉑出願人 松下電工株式会社 門真市大字門真1048番地
 ㉒代理人 弁理士 松本 武彦

明細書

1. 発明の名称

バイオセンサ

2. 特許請求の範囲

(1) 生理活性物質が固定された板状の作用極およびこれと狭い間隔をおいて向かい合う板状の対極を持ち、両電極の間が被測定溶液の流れる通路になつてゐるバイオセンサ。

(2) 作用極および対極が、間隔をおいて向かい合う2枚の基板の内側面にそれぞれ固定され、通路が、両基板と両基板の間に挿入されて両基板の両側開口を埋めるスペーサにより形成されている特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。

3. 発明の詳細な説明

この発明は、フロー式のバイオセンサに関する

(背景技術)

従来、一般に、バイオセンサには、比較的大きな市販の酸素電極あるいは過酸化水素電極などが使用されていた。そのため、これらのバイオセン

サをフローシステム（フロー式測定装置）に組み込んで測定を行う場合、セルの容積が大きくなるので、検出感度が低くなり、応答速度も遅くなつていた。このことをつぎに詳しく説明する。

第1図は、従来のフロー式バイオセンサをあらわす。図にみると、このバイオセンサは、被測定溶液の通路1と市販の酸素電極2を持つ。酸素電極2の先端にはグルコースオキシダーゼ等の生理活性物質が固定された膜3が設けられており、この膜3は通路1を流れる被測定溶液と接しうるようになつている。図中、1aは入口、1bは出口、2aはテフロン膜のような酸素を通しやすい合成高分子膜、2cは作用極、2dは対極、2eは内部液をそれぞれあらわす。

このバイオセンサを用いて試料中における被測定物質の濃度の測定を行う場合は、たとえば、つぎのようにして行う。膜3にグルコースオキシダーゼが固定され、グルコースを含む試料を測定する場合について説明する。まず、通路1に溶媒を通しておき、つぎに、溶媒に試料を加える。試料

は入口 1 a から通路 1 にはいり、膜 3 と接する。そうすると、グルコースオキシダーゼの触媒作用により、試料中のグルコースと酸素とが反応（酸素反応）して過酸化水素が生成する。この反応により、溶媒中の酸素濃度が減少し、膜 3 を通つて酸素電極 2 内に入る酸素の量も減少する。作用極 2 b と対極 2 c により、酸素の還元電流の減少量を測定する。この減少量は試料中の被測定物質の濃度と対応したものとなる。膜 2 a として過酸化水素を通しやすい膜を用いるようにして、第 1 図で示された構造の酸素電極 2 を過酸化水素電極 2 として用い、つぎのようにして測定を行うことができる。すなわち、酵素反応で生成した過酸化水素の一部は膜 3 を通過し（その他は出口 1 b から出していく）過酸化水素電極 2 内に入る。この過酸化水素の酸化電流を測定する。得られる測定値は試料中の被測定物質の濃度と対応したものとなる。

しかしながら、第 1 図にみるとおり、酸素電極（過酸化水素電極）2 における電気化学反応が行

われるセルの容積（作用極 2 b および対極 2 c を漫す内部液 2 d の体積）が大きいため（作用極 2 b および対極 2 d を収容するため必然的に大きくなる）、バイオセンサの検出感度が低く、応答速度も遅くなつてゐたのである。

〔発明の目的〕

この発明は、このような事情に鑑みてなされたもので、検出感度が高く、応答速度も速いものとすることができるバイオセンサを提供することを目的としている。

〔発明の開示〕

前記のような目的を達成するため、この発明は、生理活性物質が固定された板状の作用極およびこれと狭い間隔をおいて向かい合う板状の対極を持ち、両電極の間に被測定溶液の流れる通路になつてゐるバイオセンサをその要旨としている。

以下に、この発明を詳しく説明する。

第 2 図および第 3 図の(a)～(c)はこの発明にかかるバイオセンサの 1 実施例をあらわす。図にみるとおり、このバイオセンサは、軟質材料からなる

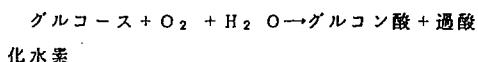
薄いスペーサ（シート）4 が、基板 5, 6 によりはさまれており、これにより基板 5, 6 は間隔をおいて互いに向かい合つている。スペーサ 4 の中央には横長の穴 4 a が開けられている。基板 5 の中央には細穴 5 a が設けられ、その両側には被測定溶液の出入口となる太穴 5 b が一つづつ設けられている。太穴 5 b の外側端には、筒状の突出部 5 c が設けられている。この突出部 5 c は、チューブ 7 を接続するためのものである。基板 5 の内側面には、白金等からなる板状の対極 5 d が固定されている。この対極 5 d には、細穴 5 a に挿入された導線 8 の先が接続されている。他方、基板 6 の中央には細穴 6 a が設けられている。また、基板 6 の内側面には、白金等からなる板状電極に酵素や微生物等の生理活性物質が固定されてなる作用極 6 b が、生理活性物質固定面が内側を向くようにして固定されており、この作用極 6 b には、細穴 6 a に挿入された導線 8 の先が接続されている。スペーサの穴 4 a の上下面が基材 5, 6 で覆われてできた空間は被測定溶液が流れる通路 9

になつており、この通路 9 の両端はそれぞれ基板 5 の二つの太穴 5 b, 5 b に接続されている。また、作用極 6 b と対極 5 d は、通路 9 をはさんで互いに向かい合つており、通路 9 を通る被測定溶液と接しうるようになつてゐる。作用極と対極は互いに逆の位置にあつてもよい。

このバイオセンサは、スペーサとして厚みの薄いものを用いて作用極と対極の間隔を狭くし、セル容積（通路の容積）を小さくすることにより、検出感度が高く、応答速度も速いものとすることができる。そのため、従来のバイオセンサに比べて試料量が少なくてすむという効果もある。

このバイオセンサは、たとえば、次のようにして用いられる。作用極 6 b としてグルコースオキシダーゼが固定されたものを用いた場合について説明する。まず、作用極 6 b に +0.6 V (対対極 5 d) を印加し、緩衝液を毎分 3 ml の速度でチューブ 7 → 太穴 5 b → 通路 9 → 太穴 5 b → チューブ 7 という順に流しておく。つぎに、グルコースを含む試料 10 μl を通路 9 に通す。そうすると

、グルコースと酸素は、グルコースオキシダーゼの触媒作用により、下記の酵素反応を行う。



この式で示されるように、グルコースが酵素変換されることによつて過酸化水素が生じ、この過酸化水素は電解酸化される。この酸化電流を検出することによりグルコース濃度を測定することができる。

作用極 6 b に -0.7 V (対対極 2 d) の電圧を印加するようにしておけば、緩衝液が通路 9 を流れている間は緩衝液中に溶けている酸素の還元電流が作用極 6 b と対極 5 d 間に流れている。しかし、グルコースを含んだ試料が作用極 6 b と対極 5 d の間を通ると前記酵素反応によつて緩衝液中の酸素量が減少し、酸素の還元電流量も減少する。この減少量を測定することにより試料中のグルコース濃度を測定することができる。このように、このバイオセンサは、作用極に印加する電圧を正または負に変えることにより、作用極を過酸化

水素検出用あるいは酸素検出用の電極として用いることができるという効果もある。

前記バイオセンサは、被測定溶液の出入口が通路に対し、垂直方向を向いた構造をしているが、第4図および第5図の(a)～(c)に示されているバイオセンサのように、出入口と通路が同一線上にある構造になつてもよいし、第6図および第7図の(a)～(c)に示されているバイオセンサのように、一方の出入口が通路に対し垂直方向を向き、残りの出入口が通路と同一線上にある構造になつてもよい。

第4図および第5図の(a)～(c)に示されているバイオセンサは、軟質材料からなる2枚の薄いスペーサー 1 0 が基板 1 1, 1 2 によりはさまれており、そのため、基板 1 1, 1 2 が、間隔をおいて互いに向かい合つている。そして、2枚のスペーサー 1 0, 1 0 同士も、間隔をおいて並べられている。基板 1 1, 1 2 は、いずれも中央に細穴 1 1 a, 1 2 a が設けられ、長さ方向両側には半円形の突出部 1 1 b, 1 1 b, 1 2 b, 1 2 b が設けら

れている。突出部 1 1 b, 1 2 b は互いに合わさつて管状となり、チューブ 7 の接続部となつてゐる。基板 1 1 の内側面には板状の対極 1 1 c が固定され、この対極 1 1 c には細穴 1 1 a に挿入された導線 8 の先が接続されている。基板 1 2 の内側面には、生理活性物質固定面が内側を向くようにして作用極 1 2 c が固定されており、この作用極 1 2 c にも、細穴 1 2 a に挿入された導線 8 の先が接続されている。基板 1 1 および 1 2 とスペーサー 1 0, 1 0 で囲まれた空間が、被測定溶液が流れる通路 1 3 になつておらず、通路 1 3 の両端が被測定溶液の出入口 1 3 a, 1 3 a となつてゐる。作用極 1 2 c と対極 1 1 c は通路 1 3 をはさんで向かい合つており、通路 1 3 を通る被測定溶液と接し合うようになつてゐる。

第6図および第7図の(a)～(c)に示されているバイオセンサは、軟質材料からなる薄いスペーサー 1 4 が基板 1 5, 1 6 によりはさまれており、基板 1 5, 1 6 は間隔をおいて互いに向かい合つてゐる。基板 1 5, 1 6 は、いずれも、中央に細穴 1 5

a, 1 6 a が設けられ、長さ方向一側には半円形の突出部 1 5 b, 1 6 b が設けられている。突出部 1 5 b, 1 6 b は互いに合わさつて、チューブ 7 の接続部となつてゐる。基板 1 5 の細穴 1 5 a からみて突出部 1 5 b の反対側には太穴 1 5 c が設けられている。太穴 1 5 c の外側端には筒状の突出部 1 5 d が設けられている。この突出部 1 5 d はチューブ 7 を接続するためのものである。基板 1 5 の内側面には板状の対極 1 5 e が固定され、この対極 1 5 e には細穴 1 5 a に挿入された導線 8 の先が接続されている。基板 1 6 の内側面には、生理活性物質固定面が内側を向くようにして作用極 1 6 c が固定されており、この作用極 1 6 c には、細穴 1 6 a に挿入された導線 8 の先が接続されている。スペーサー 1 4 には、長さ方向一端から他端の方に向かつて延びる切欠部 1 4 a が設けられている。この切欠部 1 4 a の上下が基材 1 5, 1 6 で囲まれてなる空間は、被測定溶液が流れる通路 1 7 となつてゐる。通路 1 7 の内側端は太穴 1 5 c と接続しており、太穴 1 5 c と通路 1

7の外側端は被測定溶液の出入口となつていて。作用極16cと対極15eは通路17をはさんで向かい合つており、通路17を通る被測定溶液と接し合うようになつていて。

後で説明した二つのバイオセンサも、スペーサとして厚みの薄いものを用いて作用極と対極の間隔を小さく、セル容積を小さくすることにより、検出感度が高く、応答速度も速いものとすることができます。先のものと同じ効果を得ることができます。後で説明した二つのバイオセンサは、先のものと同様にして用いられる。

つぎに実施例および比較例について説明する。

(実施例)

第2図および第3図の(a)～(c)に示されている構造のバイオセンサを実施例1、第4図および第5(a)～(d)に示されている構造のバイオセンサを実施例2、第6図および第7図の(a)～(c)に示されている構造のバイオセンサを実施例3とした。ただし、作用極としては白金板にグルコースが固定されたもの、対極としては白金板をそれぞれ用いるこ

とした。

(比較例)

第1図に示されている構造のバイオセンサを比較例とした。ただし、グルコースが固定化された膜が設けられた酸素電極を用いることとした。

実施例1～3および比較例のバイオセンサを使用して測定を行い、測定の際の検出感度および応答速度（試料を注入してから分析結果が得られるまでの時間）を調べた。結果を第1表に示す。

ただし、測定条件はつきのとおりである。

試料： 100mg/dl グルコース溶液10μl

緩衝液速度： 3ml/分

電圧： 作用極 + 0.7 V

温度： 30°C

(以下余白)

第1表

	検出感度 (μA)	応答速度 (秒)
実施例1	0.8	5
実施例2	0.95	5
実施例3	0.9	5
比較例	0.05	20

第1表より、実施例1～3のバイオセンサは、比較例のものに比べ、検出感度が高く、応答速度も速いことがわかる。

実施例1～3のバイオセンサの作用極に+0.7Vの電圧を印加して、作用極を過酸化水素検出用電極として用い、100mg/dlのグルコース溶液を試料として用いて測定を行つた。酸化電流の測定結果を第8図に示す。図中、aはベースライン、bは0.5μAをあらわす。

実施例1～3のバイオセンサの作用極に-0.7Vの電圧を印加して、作用極を酸素検出用電極として用い、100mg/dlのグルコース溶液を試料として用いて測定を行つた。還元電流の測定結果

を第9図に示す。図中、cはベースライン、dは0.2μAをあらわす。

第8図および第9図より、実施例1～3のバイオセンサは検出感度が高いことがわかる。

(発明の効果)

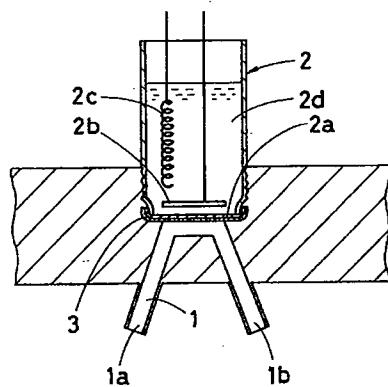
この発明にかかるバイオセンサは、生理活性物質が固定された板状の作用極およびこれと狭い間隔をおいて向かい合う板状の対極を持ち、両電極の間が被測定溶液の流れる通路になつていているので、検出感度が高く、応答速度も速いものとすることができます。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、従来のバイオセンサの縦断面図、第2図はこの発明にかかるバイオセンサの1実施例の縦断面図、第3図の(a)は同バイオセンサの基板5の底面図、同(b)は同バイオセンサのスペーサ4の平面図、同(c)は同バイオセンサの基板6の平面図、第4図はこの発明にかかるバイオセンサの別の実施例の縦断面図、第5図の(a)は同バイオセンサの基板11の底面図、同(b)は同バイオセンサの

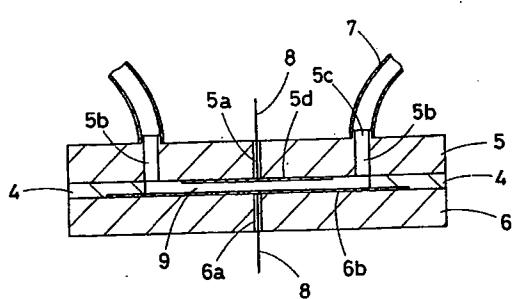
スペーサ 10 の平面図、同(c)は同バイオセンサの基板 12 の平面図、第 6 図はこの発明にかかるバイオセンサの別の実施例の縦断面図、第 7 図の(a)は同バイオセンサの基板 15 の底面図、同(b)は同バイオセンサのスペーサ 14 の平面図、同(c)は同バイオセンサの基板 16 の平面図、第 8 図は酸化電流の測定結果をあらわすグラフ、第 9 図は還元電流の測定結果をあらわすグラフである。

5 d, 11 c, 15 e … 対極 6 b, 12 c,
16 c … 作用極 9, 13, 14 … 通路

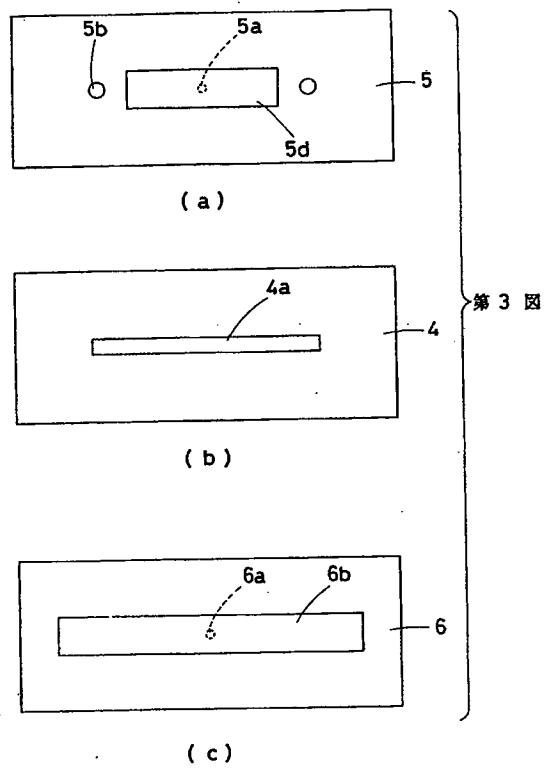


第 1 図

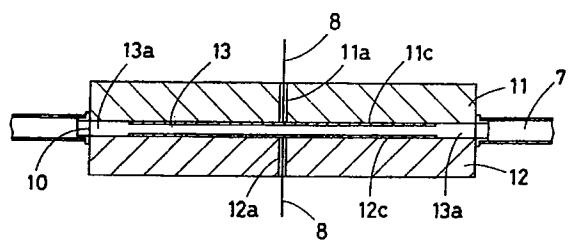
代理人 弁理士 松本 武彦



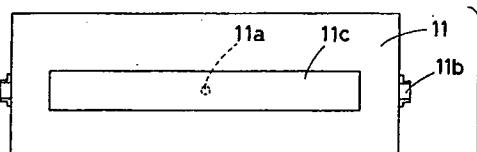
第 2 図



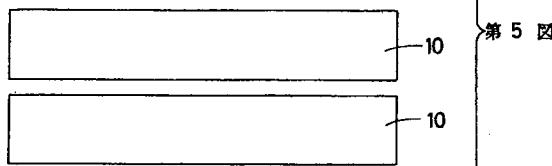
第 3 図



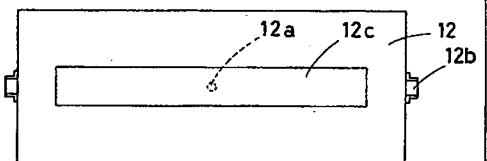
第4図



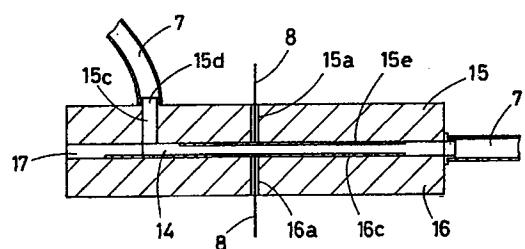
(a)



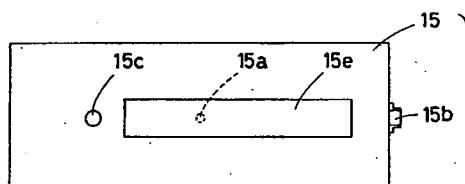
第5図



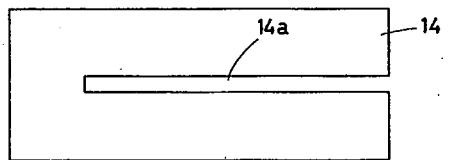
(c)



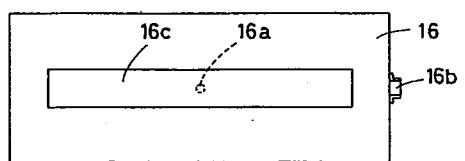
第6図



(a)



第7図



(c)

昭和59年 7月19日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

昭和59年特許願第103170号

2. 発明の名称

バイオセンサ

3. 補正をする者

特許出願人

住 所 大阪府門真市大字門真1048番地

名 称(583) 松下電工株式会社

代表者 代表取締役 小林 郁

4. 代理人

住 所 〒530 大阪市北区天神橋2丁目4番17号
千代田第一ビル8階

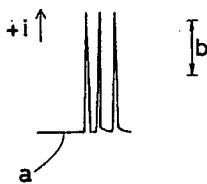
電話 (06) 352-6846

氏 名 (7346) 弁理士 松本 武彦



5. 補正により増加する発明の数

な し



第8図



第9図

6. 補正の対象

明細書

7. 補正の内容

- (1) 明細書第3頁第3行ないし同頁第4行に「
酸素反応」とあるを、「酵素反応」と訂正する。